

VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V BRNĚ
Fakulta chemická
Ústav chemie potravin a biotechnologií

Ing. Blanka Tobolková

**MODERNÍ POSTUPY HODNOCENÍ KVALITATIVNÍCH
PARAMETRŮ POTRAVIN**

**MODERN APPROACHES IN QUALITATIVE ASPECTS OF FOODS
ASSESSMENT**

Zkrácená verze PhD Thesis

Obor: Potravinářská chemie

Školitel: Ing. Martin Polovka, PhD.

Oponenti: Prof. Ing. Ladislav Omelka, DrSc., Prof. Ing. Peter Rapta, DrSc.

Datum obhajoby:

KLÍČOVÁ SLOVA

Autenticita ekologických a konvenčních potravin, víno, mouky, stabilita ovocných šťáv, antioxidační aktivita, spektroskopické metody

KEYWORDS

Authenticity of organic and conventional products, wine, flours, fruit juices stability, antioxidant activity, spectroscopic methods

MÍSTO ULOŽENÍ PRÁCE

Areál knihovny FCH VUT, Purkyňova 118, Brno

Výsledky dizertační práce byly získány vrámci řešení projektů vědy a výzkumu:

- č. 2/PVV *„Sledovanie georeferenčných a environmentálnych markerov slovenských biovín s cieľom ich autentifikácie a vypracovanie postupov pre ich odlíšenie od vín vyrábaných klasickými postupmi“*;
- CEX I (Vybudovanie „HiTech“ centra pre výskum vzniku, elimináciu a hodnotenie prítomnosti kontaminantov v potravinách – ITMS 26240120013);
- CEXII (Centrum excelentnosti pre kontaminujúce látky a mikroorganizmy v potravinách – ITMS 2624010024),
- CEXIII (Stratégia eliminácie akrylamidu v technologickom procese výroby potravín – ITMS 26240220050),
- HUSK (HUSK – 0901/1.2.1/0010 *„Využitie regionálnych zdrojov na produkciu funkčných potravín“*),
- McCarter (Zlepšenie výživových a senzorických parametrov ovocných a zeleninových nápojov aplikáciou inertných plynov – ITMS 26220220175),

realizovaných v letech 2010-2013 na pracoviskách Výzkumného ústavu potravinářského a vznikli i v rámci projektu MVTs spolupráce APVV 0161-11 (*Izolácia a charakterizácia prírodných antioxidantov zo špaldových a pohánkových múk s potenciálnym využitím pri príprave funkčných potravín*).

OBSAH

1	ÚVOD	4
2	SOUČASNÝ STAV PROBLEMATIKY	4
2.1	AUTENTICITA EKOLOGICKÝCH PRODUKTŮ	4
2.1.1	<i>Ekologická produkce vína</i>	5
2.1.2	<i>Ekologická produkce obilnin (pšenice špalda)</i>	5
2.2	STABILITA OVOCNÝCH ŠŤÁV	6
2.3	METODY STUDIA ANTIOXIDAČNÍCH VLASTNOSTÍ POTRAVIN	6
3	CÍLE PRÁCE	7
4	METODY	7
4.1	UV/VIS EXPERIMENTY	7
4.2	EPR EXPERIMENTY	8
4.3	STATISTICKÉ ZPRACOVÁNÍ DAT	9
5	VÝSLEDKY A DISKUZE	9
5.1	KOMPLEXNÍ STUDIUM ANTIOXIDAČNÍCH A RADIKÁL-ZHÁŠEJÍCÍCH VLASTNOSTÍ BIOVÍN A KONVENČNÍCH VÍN	9
5.2	STUDIUM ANTIOXIDAČNÍCH A RADIKÁL-ZHÁŠEJÍCÍCH VLASTNOSTÍ EKOLOGICKÝCH A KONVENČNÍCH ŠPALDOVÝCH MOUK	12
5.2.1	<i>Vliv extrakčních podmínek na antioxidační a radikál-zhášející vlastnosti ekologických a konvenčních mouk</i>	12
5.2.2	<i>Charakterizace antioxidačních a radikál-zhášejících vlastností ekologických a konvenčních špaldových mouk z polních pokusů</i>	13
5.3	STUDIUM STABILITY OVOCNÝCH ŠŤÁV	14
6	ZÁVĚRY	16
7	LITERATURA	18
8	SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ	20
	ŽIVOTOPIS	21
	PUBLIKACE A VÝSTUPY SOUVISEJÍCÍ S DIZERTAČNÍ PRACÍ	22
	ABSTRACT	24

1 ÚVOD

Určování autenticity a stability potravin představuje důležitý problém v procesu kontroly kvality a bezpečnosti potravin nejen výrobků získaných konvenčními, ale i ekologickými výrobními postupy. Doposud však neexistují validované metody vhodné na autentifikaci ekologických výrobků a hledají se znaky – markery indikující příslušnost potravin k uvedeným produkčním systémům.

Stále častěji se při diferenciaci ekologických potravin od potravin konvenčních využívají jejich antioxidační vlastnosti, při jejichž studiu a při studiu vlastností a procesů oxidačního poškození potravin probíhajícího radikálovým mechanismem se efektivně využívají spektroskopické metody.

Z výše uvedených důvodů, se tato práce zabývá posouzením antioxidačních vlastností a dalších spektrálních charakteristik vybraných ekologických a konvenčních (vína, špaldová mouka), jako možných markerů vhodných jejich jednoznačnou diferenciaci. Část práce je věnována studiu vlivu změn ve výrobních postupech na antioxidační a radikál-zhášející vlastnosti ananasových a pomerančových šťáv. V obou případech byla ke studiu stability a antioxidačních vlastností využita, jako nosná, kombinace metod EPR a UV/VIS spektroskopie. Kde to bylo účelné, byly vlastnosti studovaných systémů charakterizovány také dalšími analyticky metodami, zejména AAS, HPLC a elektroforezou.

2 SOUČASNÝ STAV PROBLEMATIKY

2.1 AUTENTICITA EKOLOGICKÝCH PRODUKTŮ

Během posledních 20 let došlo k výraznému rozvoji ekologického zemědělství (EZ), které v současnosti představuje uznávanou alternativu k intenzivnímu (konvenčnímu) zemědělství, a to jak v Evropě, tak i celosvětově. Dominantními ekologickými produkty jsou obilniny, káva, olivy, olejniny, ořechy, hrozny a různé druhy zeleniny a ovoce [1].

Ekologické zemědělství, produkce a zpracování potravin je podřízeno normám a zásadám, které jsou závazné pro všechny zemědělce a zpracovatele biopotravin. Jejich zařazení do systému EZ jim přináší možnost využívat označení „BIO“, „EKO“ nebo „ORGANIC“. Základními právními předpisy pro ekologické zemědělství v EU jsou Nařízení Rady (ES) č. 834/2007 o ekologické produkci a označování ekologických produktů a Nařízení Komise (ES) č. 889/2008 stanovující pravidla pro produkci, označování a kontrolu ekologických produktů [2-4]. Jsou-li výrobky prodávány na trhu označené logem EZ, pak výrobce i zpracovatel musí pracovat pod dohledem certifikačních orgánů, v ČR to jsou společnosti KEZ, o.p.s., ABCERT, GmbH a Biokont CZm s.r.o. [2, 5]. V SR vykonává přímou kontrolu výrobců a zpracovatelů evidovaných v systému EZ organizace NATURALIS SK [6].

2.1.1 Ekologická produkce vína

Jeden z nejvíce rozšiřujících se sektorů ekologického zemědělství představuje ekologické vinařství [1]. Ekologická produkce vína je řízena, kromě základních předpisů platných pro EZ, nařízením Komise (EU) č. 203/2012 o ekologické produkci vína, v kterém jsou uvedeny seznamy povolených postupů a látek pokrývajících celý proces výroby biovína, enologických postupů a ošetření povolených za specifických podmínek, a stejně tak i postupy při výrobě biovína zakázané. V nařízení je rovněž stanoven obsah SO₂ (Tab. 1) [7].

Tab. 1: Porovnání obsahu SO₂ v organických a konvenčních vínech [7-9].

<i>Typ vína</i>	<i>Organické víno [mg.l⁻¹]</i>	<i>Konvenčních víno [mg.l⁻¹]</i>
<i>červené víno</i>	100	150
<i>bílé víno</i>	150	200
<i>růžové víno</i>	150	200

Studie biovín a konvenčních vín se nejčastěji zaměřují na jejich porovnání z hlediska obsahu polyfenolických látek, tj. sekundárních metabolitů rostlin, kterým jsou připisovány různé protektivní účinky na lidský organismus [10-12]. Většina těchto studií prokázala, že jak ekologické hrozny, tak i biovína byly charakterizovány vyšší antioxidační aktivitou a vyšším obsahem polyfenolů než jejich konvenční analogy [13-19], přičemž tyto dva parametry navzájem velice dobře korelovaly [16, 17, 20, 21]. Vyšší obsah polyfenolických látek v rostlinných materiálech je obecně připisován absenci syntetických pesticidů a hnojiv v ekologickém zemědělství, což má za následek vyšší expozici stresovým situacím a tím i vyšší produkci sekundárním metabolitů jako součást obranného mechanismu [11, 22, 23].

Řada studií se také zaměřuje na posuzování biovín a konvenčních vín z hlediska obsahu kovů, biogenních aminů nebo reziduí pesticidů. Avšak, stejně jako při hodnocení antioxidační aktivity biovín, ani v tomto případě nejsou rozdíly mezi ekologickými a konvenčními víny jednoznačné [14, 16, 24-26].

2.1.2 Ekologická produkce obilnin (pšenice špalda)

Obiloviny jsou, kromě zdroje energie, bohatým zdrojem řady biologicky aktivních látek. Z toho důvodu se obiloviny nebo jejich složky využívají při výrobě tzv. funkčních potravin, tj. potravin u nichž bylo dostatečně prokázáno, že kromě běžné výživové hodnoty příznivě ovlivňují jednu či více cílových funkcí organismu, a to tak, že buď zlepšuje zdravotní stav anebo snižuje riziko nemocí [27].

Ekologická produkce obilnin, s více než 2.5 miliony ha, představuje nejrozšířenější sektor ekologického zemědělství [1]. Pšenice špalda (*Triticum spelta* L.) je vzhledem ke značné odolnosti proti škůdcům, chorobám a nepříznivým klimatickým podmínkám, vhodnou a často využívanou plodinou v ekologickém zemědělství [28]. Od pšenice seté se odlišuje vyšším obsahem bílkovin a tuků, ale nižším obsahem nerozpustné vlákniny. Z minerálních látek je významný obsah Ca,

K, Fe, Zn, Mg a P [28, 29], špalda je rovněž bohatým zdrojem vitaminů skupiny B [28].

Při komparaci ekologických a konvenčních obilnin se pšenici špaldě doposud nevěnovala řádná pozornost. Většina publikovaných prací je nejčastěji zaměřena na komparaci pšenice seté, ječmene nebo ovsa, a to na základě obsahu mykotoxinů nebo multielementárního profilu [30-35].

2.2 STABILITA OVOCNÝCH ŠŤÁV

Ovocné šťávy jsou bohatým zdrojem řady biologicky aktivních látek, včetně látek polyfenolických, které mimo svého antioxidačního působení mohou pozitivně ovlivňovat barvu a chuť ovoce, a tím přispívat k zlepšení senzorické jakosti ovocných šťáv. Nové trendy ve výrobě představuje přidávání kousků ovoce do ovocných šťáv, s cílem uspokojit požadavky spotřebitelů a zlepšit kvalitu a organoleptické vlastnosti výrobku [36].

Kvalita šťávy je v průběhu zpracování, plnění a nakonec během přepravy a skladování ovlivňována několika faktory, z nichž nejvýznamnějším je působení kyslíku, které může vést k degradaci vitaminů a dalších látek antioxidační povahy, vyvolat barevné změny a může vést k chuťovým změnám [36].

Cílenou změnou složení okolní atmosféry lze zpomalit nebo i úplně zastavit nežádoucí změny v potravinách a tím prodloužit jejich trvanlivost. Alternativou jak prodloužit trvanlivost výrobku je také použití modifikovaných obalových materiálů – aktivních obalů, které jsou schopné měnit své vlastnosti v reakci na změny podmínek vně a uvnitř obalu tak, že eliminují nebo zmírňují jejich nepříznivý dopad na kvalitu výrobku prodloužením trvanlivosti nebo organoleptických vlastností [37]. Nejvýznamnější skupinou používaných systémů aktivního balení představují tzv. absorbéry (zhášače) kyslíku (*oxygen scavengers*). Technologie vychytávání kyslíku využívá oxidaci železitého prášku, oxidaci barviva citlivého na světlo, enzymové oxidace, nebo kombinaci těchto postupů [37-40].

Stabilita ovocných šťáv je ve většině dostupných studií posuzována na základě stability barvy, změn koncentrace kyseliny askorbové, a s tím spojených změn antioxidační aktivity. Změny těchto parametrů jsou nejčastěji sledovány v závislosti na různých přístupech technologického zpracování ovoce a výrobního postupu [41-45].

2.3 METODY STUDIA ANTIOXIDAČNÍCH VLASTNOSTÍ POTRAVIN

Jedním z přístupů hodnocení autenticity potravin a jejich stability je i stanovení obsahu polyfenolických látek a charakterizace jejich antioxidačních vlastností. K určování antioxidační aktivity potravin, séra a biologických tekutin se efektivně využívají techniky EPR a UV/VIS spektroskopie, které byly využity i v této práci.

Většina metod využívaných při hodnocení antioxidačních vlastností je založena na testování schopnosti potravin eliminovat radikály (nejčastěji DPPH^{\bullet} , $\text{ABTS}^{\bullet+}$, TEMPOL nebo kyslíkové radikály – ORAC metoda) nebo na posuzování

redukujících vlastností látek (metoda FRAP, CUPRAC, Folin-Ciocalteuova metoda, atd.). Při hodnocení antioxidační aktivity je možné využít i nepřímou metodu EPR s využitím spinových lapačů [46-51].

3 CÍLE PRÁCE

Cíle disertační práce je možné rámcově definovat následovně:

- Vypracování, resp. adaptace objektivních kritérií na posouzení a hodnocení kvality různých potravin a nápojů resp. výživových doplňků přírodního charakteru, z hlediska jejich antioxidační aktivity.
- Zpracování komplexní studie vlivu produkčních a technologicko-zpracovatelských operací na antioxidační status vybraných potravin resp. obsah tzv. funkčních složek na vlastnosti funkčních potravin.
- Sledování georeferenčních a environmentálních markerů slovenských biovín za účelem jejich autentifikace a vypracování objektivních postupů pro jejich diferenciaci od vín vyráběných klasickými pěstitelsko-zpracovatelskými postupy.
- Komplexní charakterizace antioxidačních vlastností ekologických a konvenčních mouk s cílem diferencovat je podle zvolených kritérií (sezóna, produkční systém, původ, odrůda).
- Studium stability ananasových a pomerančových šťáv v průběhu skladování v závislosti na různých technologických postupech (inovací v samotném výrobním postupu, aplikace aktivních obalových materiálů s cílem prodloužit trvanlivost výrobku).

Uvedených cílů bude dosaženo zejména následovnými postupy:

- Pomocí kombinace moderních analytických, spektroskopických a statistických metod (zejména EPR, UV-VIS-NIR, HPLC a metod multivariační statistiky) prostudovat a vzájemně korelovat všechny relevantní parametry - charakteristiky vybraných modelových systémů, s hlavním důrazem na jejich antioxidační vlastnosti.
- Sledování obsahu jednotlivých potenciálně zajímavých (funkčních) složek a změn v jejich složení v důsledku technologické úpravy, skladování, termického nebo světelného namáhání, resp. expozice oxidačnímu stresu, a to jak z kvalitativního, tak i kvantitativního hlediska vybraných komodit potravin.

4 METODY

4.1 UV/VIS EXPERIMENTY

Všechny UV/VIS experimenty byly realizovány pomocí UV-VIS-NIR spektrofotometru Shimadzu 3600 s příslušenstvím.

Celkový obsah polyfenolů (TPC) v analyzovaných vzorcích byl stanoven modifikovanou metodou s využitím Folin-Ciocalteuova činidla, přičemž výsledky byly vyjádřeny jako GAE [52]. Celkový obsah flavonoidů (TFC) v extraktech špaldových mouk byl stanoven modifikovanou metodou s využitím činidla 2-aminoetyl-difenylborát [53]. V závislosti na povaze vzorků byla dále sledována tvorba oxidačních reakčních produktů (TBARS) [54], schopnost vín redukovat Fe^{3+} na Fe^{2+} (FRP) [55], v neposlední řadě pak radikál-zhášející aktivita vzorků oproti radikálům $\cdot\text{DPPH}$ a $\text{ABTS}^{+\cdot}$ [50].

4.2 EPR EXPERIMENTS

Všechny EPR experimenty byly realizovány pomocí portable X-band EPR spektrometru e-scan (Bruker, Německo) s příslušenstvím. Každé měření bylo provedeno ve dvou opakováních.

V závislosti na povaze vzorky, byla radikál-zhášející aktivita monitorována v přítomnosti radikálů $\cdot\text{DPPH}$, resp. $\text{ABTS}^{+\cdot}$ (výsledky byly vyjádřeny jako TEAC hodnoty) [50] a TEMPOL (výsledky vyjádřeny jako AAE) [56]. Antioxidační aktivita byla testována také pomocí techniky spinových lapačů s využitím $\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$ jako radikálového iniciátoru a DMPO jako spinového lapače (výsledky byly vyjádřeny jako %RS a $\text{TEAC}_{\text{DMPO}}$).

Všechna měření byla realizována pomocí ploché křemenné kyvety, vhodné pro EPR měření. Kyveta s vnitřním objemem 500 μl byla opatřena injekční stříkačkou s objemem 2 ml pro ulehčení plnění měřeným vzorkem.

Kyveta byla umístěna do dutiny EPR spektrometru a po nastavení parametrů měření se začal sledovat časový vývoj 10 EPR spekter během 15 min ($\cdot\text{DPPH}$, $\text{ABTS}^{+\cdot}$, TEMPOL) resp. 15 EPR spekter po dobu 30 min (DMPO/ $\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$), a to přesně 3 min po přidavku radikálu ($\cdot\text{DPPH}$, $\text{ABTS}^{+\cdot}$, TEMPOL) resp. $\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$ do systému.

Typické parametry – nastavení EPR spektrometru:

▪ střed pole – central field (CF)	346.5 mT ($\cdot\text{DPPH}$, $\text{ABTS}^{+\cdot}$); 346.1 mT (TEMPOL); 346 mT (DMPO)
▪ šířka pole – sweep width (SW)	10 mT (DMPO, 9 mT)
▪ modulace – modulation amplitude	0.05 mT (DMPO, 0.15 mT)
▪ zesílení – receiver gain	$3.99 \cdot 10^3$, (DMPO, $2 \cdot 10^3$)
▪ výkon mikrovlnného zdroje	6 mW
▪ frekvence mikrovlnného záření	9.71 GHz
▪ časový rozdíl mezi spektry	$\Delta t = 1.5$ min (DMPO, $\Delta t = 2$ min)
▪ časová konstanta	10.24 ms
▪ délka 1 scanu	2.62 s
▪ počet scanů – numer of scans (NS)	30
▪ počet snímaných spekter	10 (DMPO, 15)

4.3 STATISTICKÉ ZPRACOVÁNÍ DAT

Na statistické porovnání experimentálních dat byla primárně použita metoda ANOVA – procedura Tukey-HSD (Unistat v. 6.0) pro porovnání skupinových průměrů.

Experimentální charakteristiky byly pro velký soubor vzorků zpracovány také metodami vícerozměrné statistiky, s důrazem na analýzu hlavních komponent (PCA) a diskriminační analýzu – kanonická diskriminační analýza (CDA) a diskriminace metodou *K-tého* souseda.

5 VÝSLEDKY A DISKUZE

5.1 KOMPLEXNÍ STUDIUM ANTIOXIDAČNÍCH A RADIKÁL-ZHÁŠEJÍCÍCH VLASTNOSTÍ BIOVÍN A KONVENČNÍCH VÍN

Pomocí EPR a UV/VIS spektroskopie se na souboru 33 biovín a 41 konvenčních vín sledovalo celkem 15 parametrů - deskriptorů antioxidační aktivity: celkový obsah polyfenolů (TPC), tiobarbiturové číslo (TBARS), schopnost redukovat železité ionty (FRP), % schopnost terminovat radikály (%ABTS^{•+}) a (%[•]DPPH), schopnost terminovat radikály ABTS^{•+} a [•]DPPH vyjádřené jako hodnoty TEAC stanovené z UV/VIS a EPR měření (TEAC_{ABTS^{•+}(UV)}, TEAC_{[•]DPPH (UV)}, TEAC_{ABTS^{•+}(EPR)}, TEAC_{[•]DPPH(EPR)}), schopnost zhášet radikál TEMPOL (AAE), hodnoty formálních rychlostních konstant poklesu koncentrace použitých radikálů ($k_{ABTS^{•+}}, k_{[•]DPPH}, k_{TEMPOL}$) a schopnost vín terminovat radikály generované v systému chemickou reakcí v přítomnosti spinového lapače DMPO (%RS, následně přepočtena na TEAC_{DMPO}) jako potenciálních markerů pro autentifikaci a diferenciaci ekologických vín od vín konvenčních. Kromě slovenských biovín, vyprodukovaných v středoslovenské vinohradnické oblasti Modrý Kameň, byly analyzovány i komerčně dostupná biovína z České republiky, Rakouska, Maďarska a Itálie s cílem následně otestovat i regionální diferenciaci vín na základě jejich spektrálních charakteristik.

Z výsledků analýz vyplývá, že antioxidační a radikál-zhášející vlastnosti slovenských vín jsou ovlivňovány jak způsobem produkce (ekologické vs. konvenční), tak i ročníkem a odrůdovou skladbou.

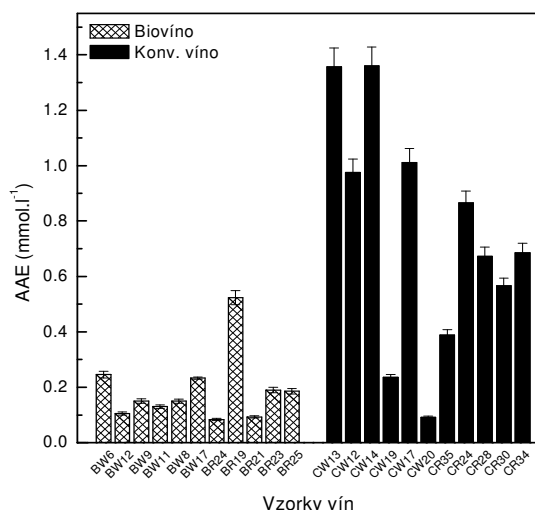
Na základě analýz se potvrdil očekávaný rozdíl mezi bílými a červenými víny, kdy bílá vína byla charakterizována několikanásobně nižšími antioxidačními vlastnostmi než vína červená. Přičemž ani jednu z experimentálních UV/VIS charakteristik nelze samostatně využít na jednoznačnou diferenciaci vín podle příslušnosti k uvedenému produkčnímu systému.

Naproti tomu, v případě hodnot AAE a %RS z EPR experimentů se ukazují určité trendy mezi ekologickými a konvenčními víny. Ve většině případů byly konvenční vína charakterizována vyššími hodnotami AAE než vína ekologická, přičemž v tomto případě se neukázal jednoznačný rozdíl mezi bílými a červenými víny v porovnání s předchozími testy (Obr. 1). Na základě nízkých korelací s dalšími deskriptory antioxidační aktivity, v případě biovín dokonce záporných, lze

předpokládat využití parametru AAE jako potenciálního markeru pro diferenciaci vín podle produkčního systému. Stejně tak, nízké korelační koeficienty byly potvrzeny i mezi hodnotami formálních rychlostních konstant zániku příslušných radikálů a zbývajícími experimentálními charakteristikami, z čehož lze rovněž usuzovat na jejich potenciální využití při diferenciaci ekologických a konvenčních vín.

V případě hodnot %RS, které přímo vyjadřují antioxidační schopnost příslušného vzorku, resp. jeho schopnost eliminovat radikály vznikající v experimentálním systému termálním rozkladem $K_2S_2O_8$, kdy pozorujeme postupný pokles koncentrace spinových aduktů, dominantně $^{\bullet}DMPO-OH$ ($a_N=1.49$ mT, $a_H=1.51$ mT, $g=2.0059$) v důsledku kompetitivní reakce mezi složkami vína a spinovým lapačem DMPO, byl opět potvrzen očekávaný rozdíl mezi bílými a červenými víny. Mimoto se ukazují i odlišnosti mezi víny ekologickými a konvenčními, kdy biovína byla charakterizována vyššími hodnotami %RS v porovnání s konvenčními.

Výsledky rovněž prokázaly podobnost antioxidačních a radikál-zhášejících vlastností a další spektrálních charakteristik mezi slovenskými a zahraničními víny.

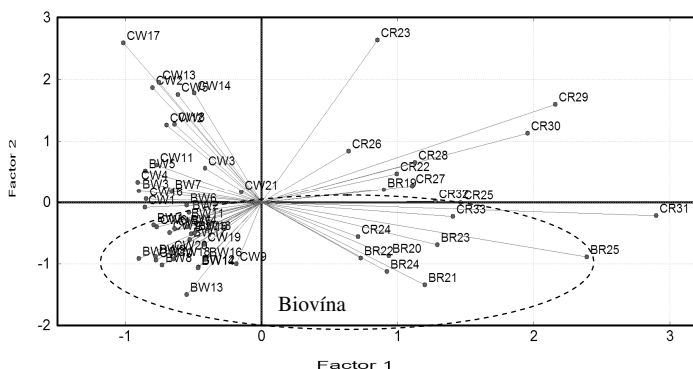


Obr. 1: Antioxidační aktivita vybraných vzorků párových ekologických a konvenčních vín vyjádřená jako Ascorbic acid equivalent, AAE (mmol.l⁻¹).

Na posouzení vlivu produkčních a technologicko-zpracovatelských operací na antioxidační status vín byla všechna experimentální data zpracována metodou ANOVA (procedura Tukey-HSD), a dále metodami vícerozměrné statistiky (PCA, CDA, metoda *K-tého* nejbližšího souseda). Přestože na základě jednoduché komparace není možné jednoznačně přisoudit výraznější antioxidační vlastnosti biovínům, výsledky statistických analýz zaměřených na signifikantnost rozdílů v komparovaných vínech dokazují, že ve většině případů jsou konvenční vína charakterizována výraznějšími antioxidačními vlastnostmi než vína ekologická.

Jako nejvhodnější markery využitelné na diferenciaci vín podle příslušnosti k produkčnímu systému lze na základě analýzy ANOVA označit parametry AAE a k_{TEMPOL} , vyšší v konvenčních vínech, a %RS, vyšší v biovínech. Faktorová analýza s rotací varimax (PCF) oddělila, i když ne úplně, biovína od vín konvenčních, přičemž selektovala hodnoty %RS a $TEAC_{DMPO}$, ale i AAE a formálních

rychlostních konstant zániku radikálů ABTS^{•+}, •DPPH a TEMPOL jako markery diskriminující ekologická a konvenční vína s největším účinkem (Obr. 2).



Obr. 2: Diferenciace slovenských biovín (B) a konvenčních vín (C) na základě faktorové analýzy 15 deskriptorů antioxidační aktivity – graf faktorových skóre.

Při diskriminaci vzorků vín podle způsobu produkce pomocí kanonické diskriminační analýzy (CDA) se využil soubor všech experimentálních charakteristik jako diskriminačních parametrů, úspěšnost klasifikace vzorků vín do odpovídající skupiny dosáhla 85.5 %, přičemž hodnoty $TEAC_{ABTS^{•+}}$ z UV/VIS a EPR měření, AAE, $TEAC_{DPPH(EPR)}$ a %RS byly vymezeny jako parametry s největším diskriminujícím účinkem. V případě samostatné diskriminace bílých a červených vín podle produkčního systému, diskriminační skóre dosáhlo dokonce 100%, resp. 95.2% správně klasifikovaných vzorků. Výsledky všech diskriminačních a klasifikačních postupů jsou uvedeny v Tabulce 2.

Tab. 2: Úspěšnost diferenciace slovenských biovín a konvenčních vín metodami kanonické diskriminační analýzy a K-tého nejbližšího souseda.

Metoda		Všechna vína (%)	Všechna vína (4 skupiny – BW vs. CW vs. BR vs. CR) (%)	Bílá vína (%)	Červená vína (%)
Kanonická	diskriminační analýza	85.5	90.4	100	95.2
K-tý soused	nejbližší $k=1$	100.0	100.0	100.0	100.0
	$k=2$	85.5	83.9	85.4	90.5
	$k=3$	82.2	75.8	90.2	100

Oddělená klasifikace bílých a červených vín byla provedena i v případě jejich klasifikace nejen podle příslušnosti k produkčnímu roku, ale i krajině původu (slovenské vs. zahraniční). V případě bílých vín bylo úspěšně klasifikováno 95.8 % vzorků, zatímco v případě červených vín úspěšnost diskriminace dosáhla 80.8 %.

I když výsledky jednotlivých spektroskopických analýz odhalily značnou variabilitu a často nejednoznačné rozdíly mezi jednotlivými skupinami vín, zjištěné rozdíly jsou dostačující pro úspěšnou diferenciaci a klasifikaci vín podle způsobu produkce s využitím metod vícerozměrné statistiky. Navíc se ukazuje, že uvedené deskriptory antioxidačních vlastností jsou využitelné i na regionální diferenciaci vzorků vín, i když s ohledem na limitovaný počet vzorků zahraničních vín jsou tyto závěry jen předběžné a vyžadují si další studium.

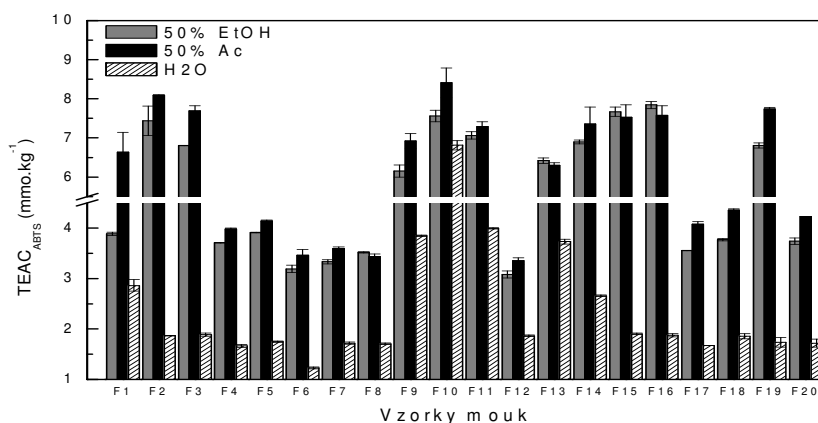
5.2 STUDIUM ANTIOXIDAČNÍCH A RADIKÁL-ZHÁŠEJÍCÍCH VLASTNOSTÍ EKOLOGICKÝCH A KONVENČNÍCH ŠPALDOVÝCH MOUK

Vzhledem k tomu, že se zastoupení hlavních složek (např. obsah minerálních látek, vitaminů, vlákniny, ale také polyfenolických látek, resp. dalších složek s potenciálním antioxidačním účinkem) v zrně příslušné odrůdy mění jen statisticky, značný vliv na chemickou skladbu zrna mají půdní, klimatické, agrotechnické, a v neposlední řadě i technologické postupy jeho následného zpracování [56]. Všechny uvedené faktory mohou výrazně ovlivnit vlastnosti zrna a obsah potenciálně zajímavých složek z hlediska jejich dalšího využití, např. při výrobě funkčních potravin. Z toho důvodu je třeba zabývat se problematikou izolace funkčních složek z mouk (polyfenoly, flavonoidy, organické kyseliny), především vztahem mezi podmínkami extrakce a obsahem těchto složek v připravených extraktech, jejich stabilitou, a je potřebné realizovat i komplexní charakterizaci vlastností takto získaných látek (např. u polyfenolů z antioxidačního hlediska) a posoudit jejich vhodnost pro další využití v potravinářském průmyslu.

Celkově se sledovalo 8 parametrů – deskriptorů antioxidační aktivity: TPC, TFC, %ABTS^{•+}, %DPPH, TEAC_{ABTS•+} a TEAC_{DPPH} z UV/VIS a EPR měření. Na posouzení vlivu produkčních a technologicko-zpracovatelských operací na antioxidační status vín byla všechna experimentální data zpracována metodou ANOVA, a dále metodami vícerozměrné statistiky.

5.2.1 Vliv extrakčních podmínek na antioxidační a radikál-zhášející vlastnosti ekologických a konvenčních mouk

Na souboru 20 komerčně dostupných ekologických a konvenčních pšeničných (F1–F8), žitných (F9–F12) a špaldových mouk (F13–F20) slovenského a maďarského původu se posuzoval vliv extrakčních podmínek (druh použitého extrakčního činidla – 50% etanol/voda (v/v), 50% aceton/voda (v/v) a voda) na jejich antioxidační aktivitu, s cílem vybrat nejvhodnější extrakční systém pro izolaci tzv. funkčních složek z analyzovaných mouk (dominantně polyfenoly a flavonoidy), které lze potenciálně využít jako přídatné látky v potravinářském průmyslu.

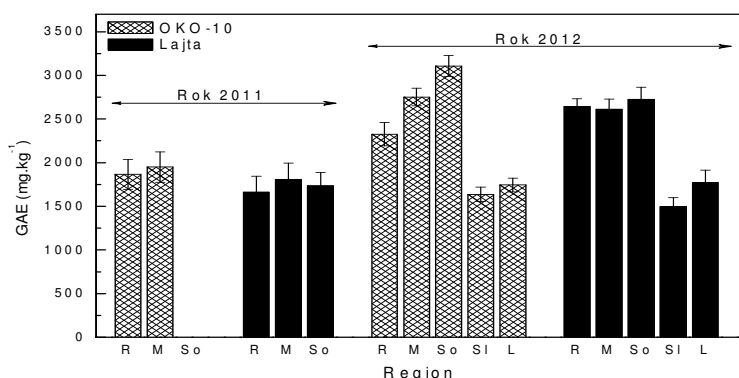


Obr. 3: Radikál-zhášející kapacita extraktů v přítomnosti kation radikálu ABTS^{•+} vyjádřená jako TEAC_{ABTS•+} (mmol.kg⁻¹) vyhodnocena z EPR měření.

Na základě výsledků měření lze konstatovat, že druh extrakčního činidla výrazně ovlivňuje složení extraktů, včetně koncentrace polyfenolů a flavonoidů, a tedy i výslednou antioxidační aktivitu extraktů mouk. Jako nejúčinnější extrahovalo, z hlediska výtěžnosti funkčních složek, lze označit 50% etanol/voda a 50% aceton/voda, jejichž extrakční účinnost je porovnatelná.

5.2.2 Charakterizace antioxidačních a radikál-zhášejících vlastností ekologických a konvenčních špaldových mouk z polních pokusů

Z praktických důvodů, a z důvodu dalšího potenciálního využití izolátů jako přídatných látek v potravinách, byl následně zvolený 50% etanol/voda jako nejvhodnější extrakční systém pro izolaci polyfenolických látek z mouk připravených ze dvou odrůd pšenice špaldy, ÖKO-10 a Lajta, pěstovaných v režimu ekologického a konvenčního zemědělství v letech 2010/2011 a 2011/2012 na území Slovenska (regiony Sládkovičovo a Lehnice) a Maďarska (regiony Mosonmagyaróvár, Rabcakapi a Sopronkövesd). V tomto případě se posuzoval vliv několika faktorů, včetně sezóny, odrůdové skladby, regionálních rozdílů a odlišných režimů pěstování na sledované parametry špaldových mouk, resp. jejich extraktů. Získané výsledky potvrdily, že sledované parametry antioxidační aktivity špaldových mouk, resp. jejich extraktů v 50% etanolu jsou nejvýrazněji ovlivňovány environmentálními faktory (sezónní rozdíly), přičemž vzorky sezóny 2011/2012 byly charakterizovány obecně vyššími antioxidačními vlastnostmi než vzorky roku 2010/2011.



Obr. 4: Průměrný obsah polyfenolů v etanolových extraktech špaldových mouk připravených z odrůd pšenice špaldy ÖKO-10 a Lajta, sklizených v letech 2011 a 2012 v různých oblastech Maďarska a Slovenska (R – Rabcakapi, M – Mosonmagyaróvár, So – Sopronkövesd, Sl – Sládkovičovo, L – Lehnice) vyjádřený jako hodnoty GAE (mg.kg⁻¹).

Podle očekávání se sledované parametry mění i v závislosti na původu vzorků, přičemž není zřejmý jednoznačný rozdíl mezi maďarskými a slovenskými moukami. Antioxidační a radikál-zhášející vlastnosti špaldových mouk jsou různou měrou ovlivňovány také odrůdovou skladbou, volbou produkčního systému, ale i způsobem ošetření pšenice špaldy během vegetace, i když tento vliv se na základě získaných údajů jeví jako nevýznamný.

Přestože na základě jednoduchého porovnání není možné jednoznačně říci zda ekologické mouky vykazují výraznější antioxidační vlastnosti než mouky konvenční, na základě statistického zpracování dat pomocí analýzy ANOVA zaměřeného na ověření významnosti rozdílů jednotlivých parametrů mezi oběma produkčními systémy lze konstatovat, že stejně jako tomu bylo při diferenciaci

ekologických a konvenčních vín, i v tomto případě výsledky poukazují na fakt, že konvenční špaldové mouky obsahují vyšší obsah polyfenolických látek, a tedy i vyšší antioxidační aktivitu.

Tab. 3: Výsledky kanonické diskriminační analýzy vzorků špaldových mouk, resp. jejich extraktů v 50% etanole podle různých diskriminačních kritérií.

<i>Parametr</i>	<i>Úspěšnost klasifikace (%)</i>	<i>Počet nesprávně klasifikovaných vzorků</i>
<i>Ročník (2011 vs. 2012)</i>	96.8	5
<i>Produkční systém (B vs. K)</i>	83.9	23
<i>Krajina původu (SK vs. HU)</i>	98.7	2
<i>Odrůda (O vs. L)</i>	75.5	38
<i>Region (M vs. S vs. R vs. Sl vs. L)</i>	76.8	36
<i>Produkční systém+ročník</i>	83.2	26
<i>Krajina původu + ročník</i>	99.4	1
<i>Odrůda + ročník</i>	80.0	31
<i>Region + ročník</i>	85.8	22

Na základě statistického zpracování všech experimentálních dat se potvrdilo, že metody vícerozměrné statistiky mohou být efektivně využity při diferenciaci špaldových mouk, přičemž všechny deskriptory antioxidační aktivity mají svoji váhu při diskriminaci špaldových mouk podle zvoleného kritéria. Uvedené deskriptory antioxidačních vlastností jsou využitelné i na regionální diferenciaci vzorků špaldových mouk (Tab. 3).

5.3 STUDIUM STABILITY OVOCNÝCH ŠŤÁV

Studium stability ovocných šťáv bylo realizováno jako součást komplexního výzkumu zaměřeného na posouzení vlivu změn ve výrobních postupech (klasická technologie výroby vs. technologie s aplikací dusíkové atmosféry v předpasterizačních fázích výroby v kombinaci s využitím aktivních obalových materiálů na bázi aktivních filtrů a scavengerů kyslíku) na antioxidační a radikál-zhášející vlastnosti dvou typů ovocných šťáv – 100% šťávy z čerstvě lisovaných ananasů s kousky ananasu a 100% šťávy z čerstvě lisovaných pomerančů s dužinou. Antioxidační a radikál-zhášející aktivita šťáv byla testována metodou EPR s využitím radikálů ABTS^{•+} a TEMPOL. Metodou UV/VIS spektroskopie byl stanoven celkový obsah polyfenolů.

V prvotní fázi bylo studium zaměřeno na posouzení vlivu různých teplotních (20 °C, 7 °C a 2 °C) a světelných režimů skladování (světlo/tma) na dynamiku změn vybraných parametrů ovocných šťáv vyráběných klasickým technologickým postupem. Dále se studium zaměřilo na posouzení dynamiky těchto změn po zavedení výše uvedených inovací ve výrobním postupu. Pozorované změny jednotlivých parametrů v analyzovaných šťávách v průběhu skladování byly popsány kinetickou rovnicí prvního řádu, která na základě vykonané analýzy nejlépe vystihuje pozorované trendy.

Z výsledků měření vyplývá, že antioxidační aktivita ovocných šťáv se výrazně mění v závislosti na podmínkách skladování (teplota, doba skladování, světelný režim), ale i regionálním původu, odrůdě a kvalitě sklizeného ovoce. Potvrdil se očekávaný negativní vliv vyšší teploty skladování na sledované kvalitativní parametry, přičemž se ukazuje, že z technologického a ekonomického hlediska jsou změny vyvolané ve vzorcích skladovaných při 2 °C a 7 °C při stejných světelných podmínkách srovnatelné, a tedy skladovací teplota 7 °C je postačující pro zachování vlastností vzorků po dobu její expirace (18 týdnů).

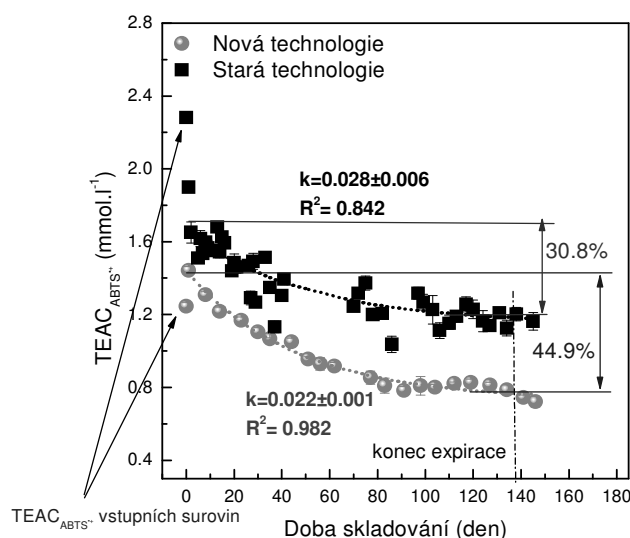
Prokázaly se rovněž určité odlišnosti sledovaných parametrů v závislosti na zvoleném výrobním postupu ovocné šťávy (Tab. 4). Nicméně i v tomto případě je třeba zohlednit kvalitu vstupních surovin, ale i heterogenitu vzorků – především obsah ovocných kousků nebo dužiny.

Tab. 4: Hodnoty rychlostních konstant charakterizující změny vybraných parametrů ananasových a pomerančových šťáv vypočítaných podle kinetické rovnice platné pro reakce 1. řádu, spolu s celkovými změnami vybraných parametrů (Δc) antioxidační aktivity na konci expirační doby (18 týdnů).

<i>Parametr/Technologie</i>	<i>k (den⁻¹)</i>		<i>R²</i>		<i>Δc (%)</i>	
	<i>Stará</i>	<i>Nová</i>	<i>Stará</i>	<i>Nová</i>	<i>Stará</i>	<i>Nová</i>
<i>Ananasová šťáva</i>						
TPC	0.064±0.029	0.027±0.003	0.899	0.988	7.2	18.3
TEAC _{ABTS} •+	0.069±0.027	0.022±0.002	0.904	0.983	29.1	35.1
AAE	0.010±0.005	0.036±0.005	0.938	0.979	29.7	25.5
<i>Pomerančová šťáva</i>						
TPC	0.019±0.006	0.017±0.002	0.844	0.969	11.8	19.8
TEAC _{ABTS} •+	0.028±0.006	0.022±0.001	0.842	0.982	30.8	44.9
AAE	0.016±0.005	0.011±0.002	0.856	0.972	43.4	64.5

Ve většině případů se potvrdil pozitivní vliv přídavku ovocných kousků nebo dužiny na sledované antioxidační vlastnosti ovocných šťáv, především u nové technologie, čímž se může výrobek stát více atraktivním pro spotřebitele.

Nicméně, i když není možné výsledky pro klasický a inovovaný technologický postup srovnat na absolutní bázi z důvodu odlišné kvality vstupní suroviny (důsledek časového odstupe v souvislosti se zaváděním nových technologických prvků), ukazuje se, že samotná aplikace dusíkové atmosféry (pouze) v předpasterizačních fázích výroby v kombinaci s aktivními obalovými materiály nemusí být schopná oxidační změny probíhající ve šťávách eliminovat. Ve většině případů byl u šťáv vyrobených touto technologií pozorován výraznější pokles antioxidačních vlastností, bez ohledu na to, zda se jednalo o ananasovou nebo pomerančovou šťávu, avšak na základě hodnot rychlostních konstant lze tento pokles označit za pomalejší (rovnoměrnější) v porovnání s klasicky vyrobenými šťávami (Tab. 4). Na základě pozorovaných změn a nižší variability experimentálních dat u šťáv vyrobených inovovaným postupem lze také lépe predikovat změny antioxidačních vlastností v průběhu skladování, a tedy lépe odhadnout optimální skladovací podmínky a dobu expirace.



Obr. 5: Změny $TEAC_{ABTS^{+}}$ hodnot 100% šťáv z čerstvě lisovaných pomerančů s dužinou, které byly vyrobeny za použití staré a nové technologie, během 22 týdnů skladování v chladniče při 7 °C. Přerušovanou čarou jsou znázorněny matematicky vypočítané závislosti podle kinetické rovnice platné pro reakce 1. řádu

Významnost rozdílů mezi jednotlivými parametry antioxidační aktivity v závislosti na odlišných technologických postupech byla ověřena metodou ANOVA – testem shody regresních přímek, který ověřuje signifikantnost rozdílů regresních konstant, které přímo vyjadřují rozdíly mezi hodnotami TPC, $TEAC_{ABTS^{+}}$ a AAE jednotlivých technologických postupů výroby analyzovaných šťáv. Podle očekávání byly potvrzeny statisticky významné rozdíly ($P < 0.05$) všech sledovaných parametrů mezi klasickou a novou technologií výroby ovocných šťáv, s výjimkou hodnot $TEAC_{ABTS^{+}}$ ananasových šťáv.

6 ZÁVĚRY

Pomocí kombinace metod EPR a UV/VIS spektroskopie, podle potřeby s dalšími analytickými metodami (HPLC, AAS, elektroforéza) byly charakterizovány antioxidační a radikál-zhášející vlastnosti a další parametry vybraných potravin. Tematicky je práce rozdělena do dvou částí. První část se zabývala posouzením vhodnosti využití antioxidačních vlastností a dalších, dominantně spektrálních, charakteristik potravin získaných ekologickými a konvenčními pěstitelskými a výrobními postupy (vína, špaldová mouka), jako markerů vhodných pro jejich jednoznačnou diferenciaci. V druhé části pak byla posuzována stabilita ananasových a pomerančových šťáv v závislosti na různých technologických postupech výroby, které byly aplikovány s cílem prodloužit trvanlivost výrobku.

Zaměření práce je důsledkem řešení projektů vědy a výzkumu zaměřených na problematiku charakterizace kvality a autentifikaci potravin na pracovišti spektroskopických metod Výzkumného ústavu potravinářského, jejichž výsledky byli podkladem pro vznik této dizertační práce.

V úvodní části byly prostudovány antioxidační a radikál-zhášející vlastnosti biovín a konvenčních vín. Výsledky analýz potvrdily, že antioxidační a radikál-zhášející vlastnosti slovenských vín jsou ovlivňovány jak způsobem produkce (ekologické vs. konvenční), tak i ročníkem a odrůdovou skladbou. Jako nejvhodnější markery využitelné na diferenciaci biovín od vín konvenčních lze na základě

statistické analýzy označit parametry AAE a k_{TEMPOL} , které byly vyšší v konvenčních vínech, a %RS, vyšší v biovínech. Přestože při diferenciaci ekologických a konvenčních vín se dosáhlo slibných výsledků, více jak 85% úspěšně klasifikovaných vzorků, jako vhodnější se ukazuje oddělená diferenciacie bílých a červených vín, kdy bylo dosaženo 100%, resp. 95.2% správně klasifikovaných vzorků.

Druhá část se věnovala studiu antioxidačních vlastností ekologických a konvenčních špaldových mouk, přičemž výsledky prokázaly, že sledované parametry špaldových mouk jsou různou měrou ovlivňovány rokem produkce, ale i původem, odrůdou, produkčním systémem. Bez ohledu na produkční systém nebo odrůdu, bylo úspěšně klasifikováno téměř 97 % špaldových mouk podle roku produkce, zatímco v případě diferenciacie mouk podle krajiny původu (SK vs. HU) více než 98 %. Naproti tomu v případě diferenciacie mouk podle jejich příslušnosti k produkčnímu systému, klasifikační skóre dosáhlo přibližně 84 %. Rovněž bylo prokázáno, že druh extrakčního činidla výrazně ovlivňuje složení extraktů, včetně koncentrace polyfenolů a flavonoidů (tzv. funkčních složek). Jako nejúčinnější extrahovalo z hlediska výtěžnosti funkčních složek lze označit směs 50% etanol/voda.

Přestože konzumenti často považují biopotraviny za nutričně hodnotnější, chutnější nebo zdraví prospěšnější, výsledky většiny publikovaných prací jsou v tomto směru často protichůdné a nejednoznačné. I v našem případě, co se týče celkového zhodnocení antioxidačních vlastností studovaných komodit, se ani v případě vín, dokonce ani špaldových mouk nepodařilo jednoznačně prokázat, že by produkty získané ekologickými pěstitelskými a výrobními postupy byly bohatším zdrojem antioxidantů. Dosažené výsledky hovoří spíše ve prospěch konvenčních potravin.

I když výsledky jednotlivých spektroskopických analýz odhalily u obou studovaných komodit značnou variabilitu a často nejednoznačné rozdíly mezi jednotlivými skupinami vín, resp. špaldových mouk, zjištěné rozdíly jsou dostačující pro jejich úspěšnou diferenciaci a klasifikaci podle způsobu produkce s využitím metod vícerozměrné statistiky pro zpracování experimentálních dat. Navíc se ukazuje, že uvedené deskriptory antioxidačních vlastností jsou využitelné i na regionální diferenciaci.

Součástí práce bylo i studium vlivu změn ve výrobních postupech (aplikace dusíkové atmosféry ve vybraných částech výrobního procesu v kombinaci s využitím uzávěrů na bázi scavengerů kyslíku) na antioxidační a radikál-zhášející vlastnosti 100% ananasových šťáv s kousky ananasu a 100% pomerančových šťáv s dužinou. Výsledky prokázaly, že antioxidační aktivita šťáv se výrazně mění v závislosti na podmínkách skladování (teplota, doba skladování, světelný režim), ale je ovlivněna i regionálním původem, odrůdou nebo kvalitou použitého ovoce. Z dosažených výsledků vyplývá, že ani aplikace dusíkové atmosféry v kombinaci s aktivními obalovými materiály nemusí být schopná oxidační změny probíhající ve šťávách eliminovat. Výsledky statistických analýz zaměřených na posouzení

signifikantnosti rozdílů jednotlivých parametrů v závislosti na odlišných technologických postupech výroby potvrdily, že jako účelnější se ukazuje aplikace klasické technologie výroby, především u pomerančových šťáv, zatímco u ananasových šťáv jsou tyto rozdíly nejednoznačné. Avšak na základě pozorovaného průběhu změn jednotlivých parametrů a nižší variability dat u šťáv vyrobených inovovaným postupem, lze lépe predikovat změny jejich antioxidačních vlastností v průběhu skladování.

Na základě výsledků práce lze konstatovat, že metodu EPR spektroskopie lze využít na rozlišování potravin podle způsobu produkce buď samostatně, nebo v kombinaci s UV/VIS spektroskopií s využitím metod multivariační statistiky. Kombinace těchto metod může být také použita na posouzení stability ovocných šťáv, jako účelné se ukazuje komplexní hodnocení vlastností studovaných vzorků také jinými analytickými metodami.

7 LITERATURA

- [1] Organic Agriculture Worldwide: Key results from the FiBL-IFOAM survey on organic agriculture worldwide 2013. Part 2: Crop data Dostupné z: <<http://orgprints.org/22349/22/fibl-ifoam-2013-crops-2011.pdf>>.
- [2] Dlouhý, J., Urban, J. Ekologické zemědělství bez mýtů: Fakta o ekologickém zemědělství a biopotravinách pro média. Olomouc : Česká technologická platforma pro ekologické zemědělství (2011).
- [3] Nařízení Rady (ES) č. 834/2007 ze dne 28. června o ekologické produkci a označování ekologických produktů a o zrušení nařízení (EHS) č. 2092/91.
- [4] Nařízení Komise (ES) č. 889/2008 ze dne 5. září 2008, kterým se stanoví prováděcí pravidla k nařízení Rady (ES) č. 837/2007 o ekologické produkci a označování ekologických produktů, pokud jde o ekologickou produkci, označování a kontrolu.
- [5] Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský: Ekologické zemědělství. Dostupné z: <<http://www.ukzuz.cz/Folders/3928-1-Ekologicke+zemedelstvi.aspx>>.
- [6] Naturalis SK - kontrolná organizácia ekologického poľnohospodárstva. Dostupné z: <<http://www.naturalis.sk/>>.
- [7] Prováděcí nařízení Komise (EU) č. 203/2012 ze dne 8. března 2012, kterým se mění nařízení (ES) č. 889/2008, kterým se stanoví prováděcí pravidla k nařízení Rady (ES) č. 834/2007, pokud jde o prováděcí pravidla pro ekologickou produkci vína.
- [8] KEZ O.P.S: Tisková zpráva - ekologické víno. Dostupné z: <<http://www.kez.cz/node/144>>.
- [9] Nařízení Komise (ES) č. 606/2009 ze dne 10. července 2009, kterým se stanoví některá prováděcí pravidla k nařízení Rady (ES) č. 479/2008, pokud jde o druhy výrobků révy vinné, enologické postupy a omezení, která se na ně používají.
- [10] Basli, A., Soulté, S., Chaher, N., Mérillon, J-M., Chibane, M., Monti, J.-P., Richard, T. Oxid. Med. Cell. Longev. 1, 1 (2012).
- [11] Capuano, E., Boerrigter-Eenling, R., van der Veer, G., van Ruth, S. M. J. Sci. Food Agr. 93, 12 (2013).
- [12] Fernández-Mar, M. I., Mateos, R., García-Parrilla, M. C., Puertas, B., Cantos-Villar, E. Food Chem. 103, 797 (2012).
- [13] Bunea, C.-I., Pop, N., Babeș, A. C., Matea, C., Dulf, F. V., Bunea, A. Chem. Cent. J. 6, 1 (2012).

- [14] Dani, C., Oliboni, L. S., Vanderlinde, R., Bonatto, D., Salvador, M., Henriques, J. A. P. *Food Chem. Toxicol.* **45**, 2574 (2007).
- [15] Machado, M. M., dos Santos Montagner, G. F. F., Boligon, A., Athayde, M. L., da Rocha, M. I. U. M. *Química Nova* **34**, 798 (2011).
- [16] Mulero, J., Pardo, F., Zafrilla, P. J. *Food Compos. Anal.* **23**, 569 (2010).
- [17] Vrček, I. V., Bojić, M., Žuntar, I., Mendaš, G., Medić-Šarić, M. *Food Chem.* **124**, 354 (2011).
- [18] Otreba, J. B., Berghofer, E., Wendelin, S., Eder, R. *Mitteilung Klosterneuburg.* **56**, 22 (2006).
- [19] Díaz, C., Laurie, V. F., Molina, A. M., Bücking, M., Fischer, R. *Am. J. Enol. Vitic.* doi: 10.5344/ajev.2013.13027 (2013).
- [20] Mulero, J., Pardo, F., Zafrilla, P. *Eur. Food Res. Technol.* **229**, 807 (2009).
- [21] Yıldırım, H. K., Akçay, Y. D., Güvenç, U., Altındışli, A., Sözmen, E. Y. *Inter. J. Food Sci. Technol.* **40**, 133 (2005).
- [22] Winter, C. K., Davis, S. F. *J. Food Sci.* **71**, 117 (2006).
- [23] Asami, D. K., Hong, Y. J., Barrett, D. M., AE, M. J. *Agr. Food Chem.* **51**, 1237 (2003).
- [24] Corrales, M., Fernandez, A., Pinto, M. G. V., Butz, P., Franz, C. M. A. P., Schuele, E., Tauscher, B. *Food Chem. Toxicol.* **48**, 3471 (2010).
- [25] Tassoni, A., Tango, N., Ferri, M. *Food Chem.* **139**, 405 (2013).
- [26] Moeder, M., Bauer, C., Popp, P., van Pinxteren, M., Reemtsma, T. *Anal. Bioanal. Chem.* **403**, 1731 (2012).
- [27] Smith, J., Charter, E. *Functional Food Product Development*. New Jersey: John Wiley & Sons (2011).
- [28] Konvalina, P., Capouchová, I., Stehno, Z., Káš, M., Janovská, D., Škeříková, A., Moudrý, J. *Pěstování a využití pšenice špaldy v ekologickém zemědělství - metodiky pro praxi*. Praha: Výzkumný ústav rostlinné výroby (2012).
- [29] Ruibal-Mendieta, N. L., Delacroix, D. L., Mignolet, E., Pycke, J.-M., Marques, C., Rozenberg, R., Petitjean, G., Habib-Jiwan, J.-L., Meurens, M., Quetin-Leclercq, J., Delzenne, N. M., Larondelle, Y. *J. Agr. Food Chem.* **53**, 2751 (2005).
- [30] Biffi, R., Munari, M., Dioguardi, L., Ballabio, C., Cattaneo, A., Galli, C. L., Restani, P. *Food Addit. Contam.* **21**, 586 (2004).
- [31] Edwards, S. G. *Food Addit. Contam. A.* **26**, 496 (2009).
- [32] Juan, C., Ritieni, A., Mañes, J. *Food Chem.* **141**, 1747 (2013).
- [33] Laursen, K. H., Schjoerring, J. K., Olesen, J. E., Askegaard, M., Halekoh, U., Husted, S. *J. Agr. Food Chem.* **59**, 4385 (2011).
- [34] Solaraska, E., Kuzdraliński, A., Marzec, M. *J. Agr. Food Chem.* **2**, 168 (2012).
- [35] Vrček, V., Vrček, I. I. *J. Food Sci. Technol.* **47**, 1777 (2012).
- [36] Sinha, N. K., Sidhu, J. S., Barta, J., Wu, J. S. B., Cano, M. P. *Handbook of fruits and fruit processing*. Oxford: John Wiley & Sons (2012).
- [37] Arvanitoyannis, I. S. *Modified atmosphere and active packaging technologies*. Boca Raton: CRC Press (2012).
- [38] Brody, A. L., Strupinsky, E. P., Kline, L. R. *Active packaging for food applications*. Oxford: Taylor & Francis (2010).
- [39] Han, J. H. *Innovations in food packaging*. New York: Elsevier (2005).
- [40] García-Tores, R., Ponagandla, N. R., Rouseff, R. L., Goodrich-Schneider, R. M., Reyes-De-Corcuera, J. I. *Compr. Rev. Food Sci Food Safety.* **8**, 409 (2009).
- [41] Torres, B., Tiwari, B. K., Patras, A., Cullen, P. J., Brunton, N., O'Donnell, C. P. *Innov. Food Sci. Emerg. Technol.* **12**, 93 (2011).
- [42] Ryan, L., Prescott, S. L. *J. Food Sci. Technol.* **45**, 1191 (2010).

- [43] Van Bree, I., Baetens, J. M., Samapundo, S., Cevlieghere, F., Laleman, R., Vandekinderen, I., Nosedá, B., Xhaferi, R., De Baets, B., De Meulenaer, B. *Food Chem.* **134**, 207 (2012).
- [44] Igual, M., García-Martínez, E., Camacho, M. M., Martínez-Navarrete, N. *Food Chem.* **118**, 291 (2010).
- [45] Velázquez-Estrada, R. M., Hernández-Herrero, M. M., Rüfer, C. E., Guamis-López, B., Roig-Sagués, A. X. *Innov. Food Sci. Emerg. Technol.* **18**, 89 (2013).
- [46] Alam, M. N., Bristi, N. J. *Saudi Pharma J.* **21**, 143 (2013).
- [47] Charles, D. J.: *Antioxidant properties of spices, herbs and other sources*. New York: Springer (2013).
- [48] Noipa, T., Srijaranai, S., Tuntulani, T., Ngeontae, W. *Food Res. Inter.* **44**, 798 (2011).
- [49] Polak, J., Bartoszek, M., Stanimirova, I. *Food Chem.* **141**, 3042 (2013).
- [50] Polovka, M., Šťavíková, L., Hohnová, B., Karásek, P., Roth, M. J. *Chromatogr A.* **51**, 7990 (2011).
- [51] Queiroz, F. R., Paviani, V., Coelho, F. R., Marques, E., Di Mascio, P., Augusto, O. *Biochem. J.* **455**, 37 (2013).
- [52] Chaovanalikit, A., Wrolstad, R. E. *J. Food Sci.* **69**, 67 (2004).
- [53] Jiang, P., Burczynski, F., Campbell, C., Pierce, G., Austria, J. A., Briggs, C. J. *Food Res. Inter.* **40**, 356 (2007).
- [54] Zin, Z. M. - Hamid, A. A. - Osman, A. - Saari, N. *Food Chem.* **94**, 169 (2006).
- [55] Chyau, C.-C., Tsai, S.-Y., Ko, P.-T., Mau, J.-L. *Food Chem.* **94**, 483 (2002).
- [56] Tobolková, B.; Durec, J.; Belajová, E.; Mihalíková, M.; Polovka, M.; Suhaj, M.; Daško, L.; Šimko, P. *J. Food Nutr. Res.* **52**, 181 (2013).

8 SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ

ABTS ^{•+}	Kation-radikál 2,2'-azinobis(3-ethyl-2,3-dihydrobenzothiazol)-6-sulfonát
AAE	Ekvivalent kyseliny askorbové
BIO/EKO/ORGANIC	Označení ekologických výrobků
BR/BW	Červená/Bílá biovína
CDA	Kanonická diskriminační analýza
CR/CW	Červená/Bílá konvenční vína
CUPRAC	Metoda založená na redukci Cu ²⁺ komplexů
[•] DPPH	2,2-difenyl-1-pikrylhydrazyl
DMPO	5,5-dimethyl-1-pyrolin-N-oxid
EPR	Elektronová paramagnetická rezonance
EZ	Ekologické zemědělství
FRAP/FRP	Metody založené na redukci Fe ³⁺ komplexů
GAE/RE	Ekvivalent kyseliny gallové/Rutin equivalent
k	formální rychlostní konstanta
ORAC	Oxygen radiál absorbance capacity
PCA	Analýza hlavních komponent
TEAC	Trolox equivalent antioxidant capacity
TEMPOL	4-hydroxy-2,2,6,6-tetramethylpiperidin-N-oxyl
TBARS	Látky reagující s kyselinou tiobarbiturovou
TFC	Celkový obsah flavonoidů
TPC	Celkový obsah polyfenolů
UV/VIS	Spektroskopie v ultrafialové-viditelné oblasti
%RS	% zhášených radikálů

ŽIVOTOPIS

Osobní údaje

Jméno a příjmení: Blanka Tobolková
Datum a místo narození: 01.03.1985, Dačice
Národnost: česká

Pracovní zkušenosti

2010-dosud Výskumný ústav potravinársky, Bratislava, Oddelenie chemie a analýzy potravín
Pozice: výzkuná pracovníce v oblasti bezpečnosti a kvality potravín

Vzdělání

2009-dosud Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická
Obor: Potravinářská chemie
Vysokoškolské studium 3. stupně

2004-2009 Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická
Obor: Potravinářská chemie a biotechnologie
Vysokoškolské studium 1. a 2. stupně

2000-2004 Gymnázium Boženy Němcové, Dačice
Úplné středoškolské vzdělání s maturitou

Ocenění

Diplom při příležitosti 2. Interaktívnej konferencie mladých vedcov 2010. Poster: Hodnocení kvality konvenčních vín a biovín pomocí moderních fyzikálně-chemických postupů. 2. Interaktívna konferenci mladých vedcov 2010, 26.4-26.5.2010. <http://www.konferencia.preveda.sk/index.php?contid=conference>.

PUBLIKACE A VÝSTUPY SOUVISEJÍCÍ S DIZERTAČNÍ PRACÍ

Publikace v impaktovaných časopisech

1. TOBOLKOVÁ, B.; DUREC, J.; BELAJOVÁ, E.; MIHALÍKOVÁ, M.; POLOVKA, M.; SUHAJ, M.; DAŠKO, L.; ŠIMKO, P.. Effect of light conditions on physico-chemical properties of pineapple juice with addition of small pineapple pieces during storage. *Journal of Food and Nutrition Research*. 2013, 52 (3) pp. 181-190. ISSN: 1336- 8672
2. POLOVKA, M.; KAJDI, F.; TOBOLKOVÁ, B.; SUHAJ, M.; BEDNÁRIKOVÁ, A. Influence of growing conditions and technological processing on properties of flours assessed by spectroscopic methods. *Chemické listy*. 2012, 106(S) (2), pp. 225-230. ISSN: 0009- 2770.
3. TOBOLKOVÁ, B.; POLOVKA, M.; SUHAJ, M. Verification of wines origin by means of modern spectroscopic techniques. *Chemické listy*. 2012, 106(S) (2), pp. 238-242. ISSN: 0009- 2770.
4. TOBOLKOVÁ, B.; POLOVKA, M.; SUHAJ, M. Differentiation of Slovak organic and conventional wines and grape musts on the basis of their EPR and UV-VIS-NIR characteristics by means of multivariate statistics. *Zaslané do Food Chemistry*. 2013.
5. TOBOLKOVÁ, B.; POLOVKA, M.; BELAJOVÁ, E.; KOREŇOVSKÁ, M.; SUHAJ, M. Possibilities of organic and conventional wines differentiation on the basis of multivariate analysis of their spectral characteristics (EPR, UV-VIS, HPLC and AAS study). *Zaslané do Journal of Agricultural Science*. 2013.

Recenzované příspěvky v odborných časopisech

1. POLOVKA, M.; KAJDI, F.; TOBOLKOVÁ, B.; SUHAJ, M. Charakterizácia a diferenciacia maďarských a slovenských organických a konvenčných múk. *Acta Agronomica Ováriensis*, 2011, 53 (1), s. 87-102. ISSN: 1416- 647X.

Ostatní publikace v časopisech a konferenční příspěvky

1. TOBOLKOVÁ, B.; DUREC, J.. Vliv skladování na antioxidační a radikál-zhášející vlastnosti pomerančových a ananasových šťáv. *Interaktívna konferencia mladých vedcov 2013. Zborník abstraktov.* , Banská Bystrica: Občanske združenie PREVEDA, 2013. s. 11-11. ISBN: 978-80-970712-5- 7
2. TOBOLKOVÁ, B.; POLOVKA, M.; SUHAJ, M. Characterization and differentiation of Hungarian spelt flours on the basis of selected spectral parameters. *XXV. International EPR seminar- Book of Abstracts*. 1. Bratislava: Ústav fyzikálnej chémie a chemickej fyziky FCHPT STU Bratislava a Slovenská chemická spoločnosť, 2013. s. 18-19. ISBN: 978-80-227-3893- 4.
3. POLOVKA, M.; TOBOLKOVÁ, B.; SUHAJ, M. Organic and conventional wines and musts differntiation on the basis of their EPR and UV- VIS characteristics. . *International EPR seminar - Book of Abstracts*. 1. Bratislava: Ústav fyzikálnej chémie a chemickej fyziky FCHPT STU Bratislava a Slovenská chemická spoločnosť, 2013. s. 15-17. ISBN: 978-80-227-3893- 4.
4. TOBOLKOVÁ, B.; BEDNÁRIKOVÁ, A.; POLOVKA, M.; SUHAJ, M. *Comparison of amino acid profiles and spectroscopic characteristics of some spelt flours*. Chemical

Reactions in Foods VII - Book of abstracts. 1. Praha: Institute of Chemical Technology, 2013. s. 295-295. ISBN: 978-80-7080-836- 8

5. TOBOLKOVÁ, B.; POLOVKA, M.; PANGHYOVÁ, E. Vliv přísadky anthokyanů na vybrané parametry modelových pekárenských výrobků. *Interaktívna konferencia mladých vedcov 2012. Zborník abstraktov.* , Banská Bystrica: Občanske združenie PREVEDA, 2012. s. 12-12. ISBN: 978-80-970712-2- 6.
6. TOBOLKOVÁ, B.; POLOVKA, M. Impact of extraction solvents on evaluation of antioxidant activity of spelt and buckwheat flours. *Abstract Book and Final Programme. 11th International Nutrition & Diagnostics Conference.* Pardubice: Univerzita Pardubice, 2011. s. 88-88. ISBN: 978-80-7395-378- 2.
7. TOBOLKOVÁ, B.; POLOVKA, M.; SUHAJ, M. Effects of extraction conditions on the antioxidant activity of buckwheat and spelt flours. *Chemické listy.* 2011. s. 1024-1024. ISSN: 0009- 2770.
8. TOBOLKOVÁ, B.; SUHAJ, M.; POLOVKA, M. Klasifikace organických a konvenčních mouk z hlediska podmínek pěstování a technologického zpracování na základě vybraných spektrálních parametrů. *Zborník abstraktov. IV. vedecká konferencia Mladých vedeckých pracovníkov v potravinárstve.* Košice, Slovenská republika: Ministerstvo pôdohospodárstva a rozvoja vidieka SR – Kontaktný bod SR pre vedeckú a technickú spoluprácu s EFSA; Univerzita veterinárneho lekárstva a farmácie v Košiciach, 2011. s. 25-25. ISBN: 978-80-970552-2- 6
9. POLOVKA, M.; TOBOLKOVÁ, B., SUHAJ, M. The evaluation of characteristic markers for organic and conventional wines differentiation by means of combination of some physico- chemical methods. *Food Process Engineering in a Changing World. "Proceesing of the 11th International Congress on Engineering and Food.* Athens: Cosmoware, 2011. s. 1171-1172. ISBN: 978-960-89789-6- 6.
10. TOBOLKOVÁ, B.; POLOVKA, M. Problémy spojené s vyjádřením antioxidační aktivity potravin. *Interaktivna konferencia mladých vedcov. Zborník abstraktov.* Banská Bystrica: Občanské združenie PREVEDA, 2011. s. 68-68. ISBN: 978-80-970712-0- 2.
11. TOBOLKOVÁ, B.; POLOVKA, M. Markers for organic, conventional wines and grape wine musts differentiation. *Sborník abstraktů.* Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, 2010. s. 59-59. ISBN: 978-80-214-4212- 2.
12. TOBOLKOVÁ, B.; POLOVKA, M. Sledovanie vybraných charakteristík slovenských biovín a konvenčných vín pre účely ich vzájomnej diferenciacie a autentifikácie. *Trendy v potravinárstve*, 2010, 16 (1), s. 13-15. ISSN: 1336- 085X.
13. TOBOLKOVÁ, B.; POLOVKA, M. Hodnocení kvality konvenčních vín a biovín pomocí moderních fyzikálně chemických postupů. *Sborník abstraktov.* Bratislava: OZ Preveda, 2010. s. 45-45. ISBN: 978-80-970421-5- 8.
14. TOBOLKOVÁ, B.; ZEMANOVÁ, J.; ŠIMKO, P. The content of some elements in dietary supplements used for climacteric symptoms elimination. *Chemické listy.* 2010, 104(S), s. 52-756. ISBN: 1803- 2389.

ABSTRACT

Antioxidant properties and some other characteristics of selected organic and conventional products (wine, spelt flours) were evaluated in view of their potential utilization as markers suitable for food unambiguous differentiation according to the affiliation to production system. Beside these, study of fruit juices stability during storage in dependence on different technological procedures of juice processing was performed.

In both cases, combination of dominantly EPR and UV/VIS spectroscopy but also other methods (e.g., HPLC, AAS, electrophoresis) was applied to evaluate the stability and antioxidant properties of selected samples. Statistical methods, especially methods of multivariate statistics were used to assess the influence of production and technological-processing operations on antioxidant status of foods and their selected characteristics.

Qualitative analysis of Slovak and foreign organic and conventional wines proved that their antioxidant properties are influenced by production system, vintage and variety. On the basis of statistical analysis, descriptors of AAE, k_{TEMPOL} and %RS were selected as the most powerful markers for Slovak organic and conventional wines discrimination. The discrimination of white and red organic and conventional wines possessed 100% and 95.2% correctness, respectively. High correctness of differentiation of Slovak and foreign wines was also achieved.

Monitored descriptors of antioxidant activity of spelt flours varied in dependence on season, origin, variety, production system and depend also on way of spelt treatment, although this effect is not so significant. It was also confirmed that the type of extraction agent substantially affects the composition of extracts including polyphenols and flavonoids concentration, affecting thus also their antioxidant activity. Mixture of 50% ethanol/water was selected as the most promising extraction system.

Although the results of individual spectroscopic assays revealed high variability and often ambiguous trends, the differences found were sufficient for successful differentiation of both wines and spelt flour samples according to the selected criteria by multivariate statistical processing of the data.

Influence of changes in technological procedures of fruit juice processing (nitrogen atmosphere application, utilization of caps with oxygen scavengers) on radical-scavenging properties of 100% pineapples juices with pieces of pineapple and 100% orange juices with pulp was assessed as well. Results obtained proved that antioxidant activity of juices varied in dependence on storage conditions (temperature, storage time, light exposure) and depends also on origin, variety and quality of fruit used. However, the application of nitrogen atmosphere and active packaging materials is not sufficient enough to eliminate the oxidation reactions in juices, but changes in antioxidant activity are better predictable.

It can be concluded that EPR spectroscopy could be effectively applied for wines and spelt flours differentiation according to the way of production and to assess the stability of food products, either alone or in combination of UV/VIS spectroscopy and the other methods, utilizing multivariate statistics for processing of experimental data.